

# Набор биохимических реагентов для ветеринарии

## КРЕАТИНИН ДиаВетТест



### НАЗНАЧЕНИЕ

КРЕАТИНИН ДиаВетТест – это набор жидких, готовых к употреблению реагентов для количественного определения содержания креатинина в сыворотке крови и моче животных и птиц.

Набор реагентов должен использоваться квалифицированным персоналом в области ветеринарной лабораторной диагностики.

Количество определений зависит от объема фасовки реагентов и типа используемого биохимического анализатора.

### МЕТОД

Кинетический метод Яффе без депротеинизации.

### ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод основан на реакции Яффе. Креатинин в щелочной среде взаимодействует с пикриновой кислотой с образованием окрашенного комплекса, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации креатинина в образце и измеряется фотометрически при длине волны 500 (490–510) нм.

### СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1	Раствор, pH 13,0, содержащий NaOH	≥350 ммоль/л
Реагент 2	Раствор, содержащий кислоту пикриновую	13 ммоль/л
Калибратор	Калибровочный раствор Креатинина	177 мкмоль/л

Реагенты и калибраторы ДиаВетТест поставляются жидкими и готовыми к использованию.

### АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Параметр	Значение
Линейность	35,4–1350 мкмоль/л
Отклонение от линейности	не более 5%
Чувствительность	не более 25 мкмоль/л
Коэффициент вариации	не более 4%

**Примечание.** Нормальные показатели для разных животных могут варьировать в широких пределах. При содержании креатинина в образце выше 1350 мкмоль/л анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором (0,9% NaCl) в 2 раза и полученный результат умножить на 2.

### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов проводят измерения контрольной сыворотки «Норма» (TruLab N) (Яффе без компенсации), контрольной сыворотки «Патология» (TruLab P) (Яффе без компенсации) и контрольной мочи TruLab Urine (Уровень 1 и Уровень 2) производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия).

Возможно использование других контрольных материалов, аттестованных данным методом и не уступающих по своим свойствам рекомендуемому.

При работе на полуавтоматических анализаторах для калибровки фотометрической системы рекомендуем использовать калибратор из набора. Значение калибратора из набора прослеживается до референсного материала Creatinine ≥99%. При работе на автоматических анализаторах для калибровки фотометрической системы рекомендуем использовать мультикалибратор TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия). Значение концентрации креатинина в TruCal U прослеживается до референсного метода газовой хроматографии – масс-спектрометрии изотопного разведения (GC-IDMS).

Калибровку рекомендуем проводить в следующих случаях: при нестабильности результатов контроля качества, в случае выхода значений контроля качества за пределы установленных диапазонов для используемого лота контрольного материала, при использовании нового набора.

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для диагностики *in vitro*.
2. Реагент 1 содержит гидроокись натрия, реагент 2 – пикриновую кислоту. При работе с ними соблюдайте осторожность и не допускайте попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промойте пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании выпейте 0,5 л теплой воды и вызовите рвоту. При необходимости обратитесь к врачу.
3. Предпринимать стандартные при работе с лабораторными реактивами меры предосторожности.
4. Не использовать реагенты и контроли после истечения срока годности.

### ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

**Биреагентная схема - запуск реакции субстратом.**

Реагент 1, реагент 2 и калибратор готовы к использованию.

**Монореагентная схема - запуск реакции образцом.**

Приготовление рабочего реагента: смешать 4 части Реагента 1 с одной частью Реагента 2 (например, 20 мл Реагента 1 + 5,0 мл Реагента 2). Для стабилизации компонентов раствора рабочий реагент перед использованием следует выдержать 20–30 мин при комнатной температуре.

Рабочий реагент можно хранить при температуре 2–8°C в течение 5 суток, при комнатной температуре (15–25°C) – в течение 8 часов, в защищенном от света месте.

Калибратор готов к использованию.

Следует тщательно закрывать флаконы с Реагентами 1 и 2 непосредственно после каждого использования, в том числе при хранении на борту автоматических биохимических анализаторов (в нерабочее время), во избежание изменения pH при контакте с воздухом.

Лиофилизированный мультикалибратор TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия) готовят согласно прилагаемой к каждому лоту инструкции.

### ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

*Адаптации к автоматизированным системам запрашивайте дополнительно.*

**Перед проведением анализа Рабочий реагент следует прогреть в рабочих кюветах при температуре 37±0,5°C в течение 15 мин.**

Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблицах.

### Биреагентная схема – запуск реакции субстратом.

Отмерить, мкл*	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Вода дистиллированная	100	–	–
Калибратор/ мультикалибратор	–	100	–
Образец	–	–	100
Реагент 1	1000	1000	1000
Перемешать, инкубировать 0–5 мин, затем добавить:			
Реагент 2	250	250	250
Пробы перемешать, через 30 сек измерить оптическую плотность A1 опытной и калибровочной пробы против контрольной (холостой) пробы при длине волны 500 (490–510) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм при температуре 37°C. Затем включить секундомер и через 2 минуты (точно) аналогично измерить оптическую плотность A2.			



**Монореагентная схема – запуск реакции образцом.**

Отмерить, мкл*	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Вода дистиллированная	100	–	–
Калибратор/мультикалибратор	–	100	–
Образец	–	–	100
Рабочий реагент	1000	1000	1000

Пробы перемешать, через 30 сек измерить оптическую плотность А1 опытной и калибровочной пробы против контрольной (холостой) пробы при длине волны 500 (490–510) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм при температуре 37°С. Затем включить секундомер и через 2 минуты (точно) аналогично измерить оптическую плотность А2.

$$\Delta A = A2 - A1$$

\*При использовании полуавтоматических биохимических анализаторов рекомендуемое соотношение Образец/Рабочий реагент составляет 1:10.

**Внимание!** При использовании автоматических биохимических анализаторов рекомендуемое соотношение образец/Рабочий реагент составляет 1:20, а соотношение Образец/Реагент 1/Реагент 2 – 1:20:5.

**РАСЧЕТЫ**

**Содержание креатинина в сыворотке крови (в мкмоль/л) определить по формуле:**

$$C = \frac{\Delta A_{оп}}{\Delta A_{кал}} \times 177$$

- где: С – концентрация креатинина, мкмоль/л;  
 ΔA<sub>оп.</sub> – изменение оптической плотности опытной пробы, ед. опт. пл.;  
 ΔA<sub>кал.</sub> – изменение оптической плотности калибровочной пробы, ед. опт. пл.;  
 177 – концентрация креатинина в калибраторе, мкмоль/л.

**Содержание креатинина в моче (в мкмоль/сутки) определить по формуле:**

$$C = \frac{\Delta A_{оп} \times V \times 50}{\Delta A_{кал}} \times 177$$

- где: С – концентрация креатинина, мкмоль/сутки;  
 ΔA<sub>оп.</sub> – изменение оптической плотности опытной пробы, ед. опт. пл.;  
 ΔA<sub>кал.</sub> – изменение оптической плотности калибровочной пробы, ед. опт. пл.;  
 50 – коэффициент разведения мочи;  
 V – количество мочи, собранной за сутки, л;  
 177 – концентрация креатинина в калибраторе, мкмоль/л.

**Креатининовый клиренс [мг/мин/1,73 м<sup>2</sup>] =**

$$= \frac{\text{мг Креатинин}/100 \text{ мл Моча} \times \text{мл Моча}/24\text{ч}}{\text{мг Креатинин}/100 \text{ мг Сыворотка} \times 1440 \text{ мин}}$$

1,73 м<sup>2</sup> – усредненная площадь поверхности тела взрослого человека.

**Фактор пересчета:**

$$\text{Креатинин [мг/л]} \times 8,84 = \text{Креатинин [мкмоль/л]}$$

**СПЕЦИФИЧНОСТЬ/ПОМЕХОУСТОЙЧИВОСТЬ**

Аскорбиновая кислота до 300 мкг/мл, гемоглобин до 5,0 г/л и липемия до 22,52 ммоль/л триглицеридов не влияют на точность анализа. Влияние билирубина на точность определения начинается с концентрации 68,4 мкмоль/л. Дополнительных веществ (АЛФ), устраняющих липемичность сыворотки, не требуется.

**ТРАНСПОРТИРОВКА, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА**

Транспортирование должно производиться всеми видами крытого грузового авто, авиа, ж/д транспорта, в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 15–25°С в устройствах, обеспечивающих

регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

Набор должен храниться при температуре 15–25°С в устройствах, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры, в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности.

**Замораживание компонентов набора не допускается.**

Изделия, транспортированные и хранившиеся с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Набор применять в помещениях с нормальными климатическими условиями при температуре окружающей среды от 15 до 25°С, относительной влажности воздуха не более 80%.

**Срок годности набора – 18 месяцев.**

**Прекратить применение серии изделия по истечению срока ее годности!**

При соблюдении условий хранения все компоненты набора стабильны в течение всего срока годности.

Калибратор, реагент 1 и реагент 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре 15–25°С в течение всего срока годности наборов при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения, в защищенном от света месте.

Рабочий реагент можно хранить при температуре 2–8°С в течение 5 суток, при комнатной температуре (15–25°С) – в течение 8 часов, в защищенном от света месте.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

**ТРЕБОВАНИЯ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

Набор КРЕАТИНИН ДиаВетТест не является источником опасных излучений и выделений в окружающую среду, не содержит токсичных и взрывоопасных веществ, представляющих угрозу окружающей среде и здоровью медицинского персонала, при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

**УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ**

Утилизацию после проведения исследования следует проводить в соответствии с местными правилами, принятыми для лабораторных отходов.

**ИЗГОТОВИТЕЛЬ**

АО «ДИАКОН-ДС», 142290, Московская область, г. Пущино, ул. Грузовая, д.1а.

**Система менеджмента качества сертифицирована на соответствие требованиям: EN ISO 13485, ГОСТ ISO 13485**





## ПАМЯТКА ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ

Креатинин — конечный продукт распада энергозапасяющего соединения фосфокреатина в ходе реакций энергетического обмена. В основном образовании креатинина происходит в мышечных тканях, и затем он выделяется в кровь. Из организма креатинин выводится почками с мочой.

Набор реагентов (КРЕАТИНИН ДиаВетТест) возможно использовать на различных моделях полуавтоматических и автоматических и биохимических анализаторах открытого типа.

Не допускается использование набора по истечению срока годности, указанной на упаковке!

### Показания к применению

Наибольшее клиническое значение имеет определение концентрации креатинина в крови для диагностики заболеваний почек. Повышение содержания креатинина в плазме всегда указывает на нарушение фильтрационной и выделительной функций почек и является маркером почечной недостаточности при различных заболеваниях (острый и хронический гломерулонефрит, пиелонефрит, поражение почек при сахарном диабете, артериальной гипертонии, мочекаменной болезни, амилоидозе, др.). В клинической практике используется определение креатинина не только в крови, но и в моче (проба Реберга). Кроме заболеваний почек, повышенный уровень креатинина может наблюдаться и при обширных ожогах, синдроме длительного раздавливания (некроз мышечной ткани при длительном сдавливании конечности), при кишечной непроходимости иногда при выраженном тиреотоксикозе.

### ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

Кат. №	Состав набора, мл	Общий объем, мл
DV 781 003	Реагент 1: 2x68 Реагент 2: 2x17 Калибратор: 1x3,0	170
DV 781 004	Реагент 1: 6x68 Реагент 2: 6x17 Калибратор: 2x3,0	510

### Забор образцов

#### 1. Требования к квалификации персонала.

К выполнению исследований допускаются лица, прошедшие подготовку (лаборанты, ветеринарные фельдшера, ветеринарные врачи, химики и др.) по эксплуатации анализатора и методикам выполнения измерений.

#### 2. Отбор проб.

2.1. Отбор крови проводят утром, до кормления животных и проведения лечебных мероприятий. «Правила взятия патологического материала, крови, кормов и пересылки их для лабораторного исследования» утв. Минсельхоз СССР 24.06.1971.

2.2. Для отбора проб крови применяют стеклянные пробирки многократного использования или системы взятия крови (СВК) по ГОСТ ISO 6710-2011.

#### 2.2.1. Правила взятия крови при использовании вакуумных систем:

Обязательное соответствие цвета вакуумной системы и целей исследования.

**Для биохимических исследований используются СВК с красной, желтой или оранжевой крышкой.**

Каждая пробирка содержит определенное количество реагента для указанного на ней объема крови. Пробирки заполняются в соответствии с указанным уровнем, в пределах  $\pm 10\%$  от указанного объема.

При применении СВК с красной/желтой/оранжевой маркировкой, которые содержат активаторы свертывания с биологически инертным гелем, образующие после центрифугирования барьер, отделяющий сыворотку от форменных элементов крови, что позволяет получать образцы более высокого качества и сократить время коагуляции (указывается производителем в инструкциях по применению СВК).

**Внимание! Неправильное соотношение крови и реагента в пробе ведет к недостоверным результатам анализа.**

Сразу после заполнения пробирку необходимо аккуратно перевернуть 4–10 раз на  $180^\circ$  для смешивания крови с наполнителем. Количество перемешиваний указывается в инструкции по применению. Перемешивание необходимо проводить

аккуратно, пробирку не трясти, во избежание коагуляции и гемолиза.

**Внимание! В плохо перемешанной пробе образуются микросгустки, приводящие к искажению результатов анализов, а также к поломкам лабораторных анализаторов.**

#### 3. Транспортировка.

Пробирки с кровью плотно закрываются пробками и в строго вертикальном положении в термоконтейнерах с хладагентом перемещаются в лабораторию. Время доставки не должно превышать 24 часа при температуре 2,0–8,0°C.

Следует избегать тряски во избежание развития гемолиза. Температура ниже 4°C и выше 30°C может существенно изменить содержание в образце многих аналитов.

#### 4. Подготовка проб:

##### 4.1. Получение плазмы крови.

Отобранные пробы крови переливают в центрифужные пробирки и центрифугируют 20–30 минут при 2000–3000 об/мин., отделившуюся плазму переносят в чистые сухие пробирки.

При применении СВК допускается центрифугирование непосредственно в первичной пробирке, в соответствии с инструкцией к использованию.

##### 4.2. Получение сыворотки крови.

**Сыворотка крови должна быть отделена от форменных элементов не позднее 1 часа после забора материала.**

Кровь в стеклянных пробирках, в течение часа после забора, обводят тонкой спицей из нержавеющей стали диаметром 1,0–1,5 мм и ставят в термостат при температуре 37–38°C на 30 минут для окончательного отделения сыворотки. Отделившуюся сыворотку переносят в центрифужные пробирки и центрифугируют в течение 20–30 минут при 2000–3000 об/мин.

**Внимание! Исследования не проводятся при:**

- гемолизе, хилезе сыворотки (плазмы) крови (за исключением исследований, на которые наличие гемолиза, хилеза не влияют [6]).
- поступлении в СВК с несоответствующей маркировкой (то есть материал взят не с тем антикоагулянтом, консервантом и др.).
- наличии сгустков в пробах с антикоагулянтом.
- поступлении в СВК с истекшим сроком годности.

##### 4.3 Подготовка проб мочи (суточной).

Мочу для анализа следует собирать в соответствии со стандартными процедурами для сбора мочи.

Мочу собирать в течение 24 ч (без использования соляной кислоты в качестве консерванта, с точным соблюдением времени сбора мочи). Перед определением мочу необходимо разбавить дистиллированной водой в 50 раз.

#### 5. Хранение.

Стабильность в сыворотке:

5 дней	при 2–25°C
1 месяц	при –20°C

Стабильность в моче:

1 день	при 15–25°C
5 дней	при 2–8°C
3 месяца	при –20°C

**Загрязненные образцы хранению не подлежат!**

**Замораживать образцы можно не более одного раза!**

#### 6. Возможные причины получения недостоверных результатов:

- низкое качество дистиллированной (деионизированной) воды. Для повышения точности калибровки рекомендуется использовать высокоочищенную воду, как для приготовления контрольных сывороток, так и для самой калибровки (нулевая точка).

- недостаточно чистая посуда. Посуду следует мыть хромовой смесью или раствором 4M соляной кислоты в дистиллированной (деионизированной) воде, затем тщательно ополоснуть дистиллированной (деионизированной) водой.

- загрязнение блоков кювет. Рекомендуется регулярно проверять чистоту измерительных кювет с использованием соответствующих утилит анализатора и при необходимости проводить очистку согласно инструкции по эксплуатации на прибор.



- несоблюдение условий хранения и эксплуатации наборов, калибраторов и стандартных сывороток. *Рекомендуется заменить реagenты, калибраторы, стандартные сыворотки.*

- технические ошибки при программировании методов на автоматических анализаторах. *Необходимо проверить соответствие параметров установленной методики с адаптациями производителя к конкретному анализатору.*

- ошибки при проведении преаналитического этапа. *Необходимо повторно произвести забор крови и выделение сыворотки (плазмы) с соблюдением установленных норм и правил.*

- ошибки при приготовлении реagenтной смеси, и нарушение соотношения реagenт/образец (при работе на полуавтоматических биохимических анализаторах). *Необходимо повторить смешивание.*

- недостоверные результаты при проведении контроля качества. *Необходимо провести калибровку прибора в соответствии с инструкцией по эксплуатации анализатора.*

## НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Образец	Нормальный диапазон, мкМоль/л
Собаки	44,3-138,4
Кошки	48,6-165,0
Лошади	76,8-174,5
Крупный рогатый скот (КРС)	55,8-162,4
Свиньи	69,6-207,7
Овцы	106-168,0
Куры	9,0-53,0

\*Рекомендуем в каждой лаборатории уточнять диапазон значений нормальных величин для обследуемых животных, которые могут зависеть от различных факторов

## Возможные причины изменения уровня креатинина:

### Повышение уровня креатинина:

- Снижение скорости клубочковой фильтрации, дегидратация, сердечно-сосудистые заболевания, шок, гиповолемия;
- Поражение паренхимы почек, острая и хроническая почечная недостаточность, пиелонефрит, неоплазия, травма, ишемия;
- Обструктивные расстройства;
- Массивные поражения мышц, гипертиреоз.

### Понижение уровня креатинина:

- Голодание, снижение мышечной массы, прием кортикостероидов, гипергидратация, миодистрофия.

**ВНИМАНИЕ!** Лабораторное исследование только этого параметра не является достаточным основанием для постановки диагноза, но может быть частью комплексного клинико-терапевтического обследования.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Boyd J.W. The interpretation of serum biochemistry test results in domestic animals, in Veterinary Clinical Pathology, Veterinary Practice Publishing Co., Vol. XIII, # II, 1984.
2. Кондрахин И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. – М.: 2004.
3. Медведева М. А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. – М.: «Аквариум Принт», 2013–416 с.
4. Холод В.М. Справочник по ветеринарной биохимии. – В.: 2005.
5. Guder W.G., Zawta B. et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001.
6. Д. Мейер, Дж. Харви. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика. Пер. с англ. – М.: Софион. 2007, 456 с.
7. Методические рекомендации по применению наборов реagenтов «ДиаВетТест» для биохимических исследований сыворотки (плазмы) крови животных на автоматических и полуавтоматических анализаторах. – М.: ФГБУ ЦНМВЛ, Россельхознадзор, 2018.
8. I.S.I.S., Standard International Units - March 2002.

За дополнительной информацией или при рекламациях следует обращаться в ООО «ДИАВЕТ»:  
142290, г. Пущино, Московской обл.

<https://diakonvet.ru/>  
[info@diakonvet.ru](mailto:info@diakonvet.ru)

Рекомендовано Центральной научно-методической ветеринарной лабораторией

